P450 の遺伝子多型と薬物動態

千葉 寛

Polymorphism of Cytochrome P450 Genes and Drug Disposition

Kan CHIBA

*Laboratory of Pharmacology and Toxicology, Department of Pharmacogenomics,
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Chiba University, Chiba*

Summary: Molecular genetics of cytochrome P450 enzymes (CYPs) in relation to the drug development and drug treatment are reviewed. CYPs play a key role in the metabolism of various drugs. The capacity of CYPs varies from one person to another, leading to variable rates of drug metabolism. This variability is mainly due to the genetic polymorphism of CYPs. A number of different functional alleles of different CYPs have been identified. CYP2D6, CYP2C19 and CYP2C9 are the three most well studied and best characterized. On the other hand, CYP3A4 is the most important isoform of CYPs which metabolizes more than half of substrate drugs of CYPs. Although CYP3A4 is known to show wide inter-individual variation, it has not been attributed to genetic factor but to rather induction and inhibition of this enzyme. However, up to now the existence of 12 mutant alleles have been reported for this enzyme and variable capacity of CYP3A4 is now recognized to be explainable in part by the genetic factors. In this article, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 and CYP3A4 will be dealt with in some detail but other CYPs will be covered in outline.

Key words: Polymorphism, Cytochrome P450, CYP, CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9, CYP3A4, CYP1A2, CYP2E1, CYP2A6, CYP2B6

はじめに

Cytochrome P450 (CYP)には多数の分子種があり、外来性化学物質の代謝にかかわるヒトの分子種だけでも20種類近くが知られている。これらのうち、医薬品の代謝にかかわる最も重要な分子種はCYP3A4であり、CYPで代謝される医薬品の半数以上がこの分子種により主に代謝を受ける。CYP3A4に続く分子種はCYP2D6であり、CYPで代謝される医薬品の4分の1位がこの分子種により主に代謝を受ける。CYP3A4, CYP2D6以外では、CYP2C9, CYP2C19, CYP1A2, CYP2E1が重要であり、これら6分子種でCYPにより代謝される医薬品の95%以上が説明されると考えられている。その他、関係する医薬品の数はそれ程多くないが、CYP2A6, CYP2B6も幾つかの医薬品の代謝に主要な酵素としてかかわっている。

本稿ではこれらのCYP分子種の遺伝子多型について、Human Cytochrome P450 Alleleのホームページの記載に基づき¹⁾、医薬品開発あるいは臨床的な観点から薬物動態との関係を概説する。

1. CYP2D6

CYP2D6は β 遮断薬(メトプロロール、他)、抗不整脈薬(フレカイニド、他)、抗うつ薬(イミプラミン、他)、抗精神病薬(ハロペリドール、他)など70種類以上の医薬品の代謝にかかわっている分子種である。CYP2D6の活性が遺伝的に欠損している個体がいることは、20年以上前から知られており、poor metabolizer (PM)とよばれていた。PMの頻度は白人種で7%、日本人では0.7%であり、CYP2D6で主に代謝される薬物をPMが服用すると、高い血漿中濃度が長時間続くため副作用が起こりやすいことが知られている²⁾。

PMの原因となる遺伝子変異は現在までに16種類報告されているが、白人種ではエキソン4の一塩基変異に伴うスプライシング異常(CYP2D6*4)、エキソン5の1塩基欠失に伴うフレームシフト(CYP2D6*3)、CYP2D6遺伝子全体の欠失(CYP2D6*5)が主要な変異であり(Fig. 1)、これらの変異遺伝子により白人種のPMの90%以上が説明可能とされている³⁾。一方、モンゴル人種やニグロ人種におけるCYP2D6*4の頻度は白

人種と比較すると極めて低く、このことがモンゴル人種やニグロ人種では PM 頻度が低い原因と推定されている。日本人の PM の原因遺伝子としては *CYP2D6*5* が最も多く(遺伝子頻度: 4.1%), 以下 *CYP2D6*4* (0.8%), *CYP2D6*14* (0.7%), *CYP2D6*18* (0.5%) が続いている⁴⁻⁷⁾ (Fig. 2)。

CYP2D6 の遺伝子変異は PM にとどまらず、中間型の intermediate metabolizer の原因となる変異遺伝子 (*CYP2D6*10*) の存在も明らかにされている。これは、188 番目のシトシンがチミンに置換した結果、34 番目のプロリンがセリンに変わったもので、*CYP2D6* 蛋白の安定性が低下し、定常状態における発現量が低下するためと考えられている⁸⁾。*CYP2D6*10* の頻度は白人種では数%であるのに対し日本人では 39% と高い^{6,7)}。

Fig. 1 Defective alleles of *CYP2D6* frequently seen in Caucasians
 Numbers in parenthesis are allele frequencies expressed as percentage in Caucasian population. Arrows indicate causative mutations for *CYP2D6* deficiency.

Fig. 2 Defective alleles of *CYP2D6* frequently seen in Japanese.
 Numbers in parenthesis are allele frequencies expressed as percentage in Japanese population. Arrows indicate causative mutations for *CYP2D6* deficiency.

一方、代謝能が通常のよりも大きい ultrarapid metabolizer の原因となる遺伝子増幅の存在も明らかにされている。現在、最大で *CYP2D6* 遺伝子が 12 個増幅している例が報告されているが⁹⁾、これだけ増幅している例はまれで、2 個へ増幅した *CYP2D6* のコーカサス人種³⁾ および日本人における遺伝子頻度は数%である⁷⁾。

2. CYP2C19

CYP2C19 で代謝される医薬品の数はそれ程多くはないが、現在使用されているプロトンポンプ阻害薬は総てこの分子種により代謝を受ける¹⁰⁾。*CYP2C19* の活性が欠損している個体は *CYP2D6* の場合と同様に PM とよばれており、日本人の 20% が *CYP2C19* の PM である¹¹⁾。白人種の PM 頻度は約 3% と低い¹¹⁾。PM がオメプラゾールを服用した場合、*CYP2C19* の正常遺伝子をホモで持つ個体と比較して血漿中濃度が 10 数倍高くなる。そのため、オメプラゾールとアンピシリンの併用によるピロリ菌の除菌の成功率は PM ではほぼ 100% であるのに対し、*CYP2C19* の正常遺伝子をホモで持つ個体では約 30% に過ぎない¹²⁾。

CYP2C19 の変異遺伝子が初めて報告されたのは 1994 年のことで、エキソン 5 の一塩基一塩基置換により mRNA の読み枠に未熟停止コドンが生じ機能を持たない蛋白が作り出されることが明らかにされた¹³⁾ (Fig. 3)。この遺伝子変異 (*CYP2C19*2*) により日本人の PM の 70%、コーカサス人の PM の 58% が説明される。続いてエキソン 4 にも未熟停止コドンを生じる 1 塩基置換 (*CYP2C19*3*) が見出され、この変異と *CYP2C19*2* を合わせると日本人の PM はほぼ 100% 説明されるようになった¹⁴⁾。しかし、コーカサス人種についてはこの二つの遺伝子変異で PM の 87% しか説明されないが、現在では上記以外に PM の原因となる 5 個の変異遺伝子の存在が明らかにされている¹⁾。

Fig. 3 Defective alleles of *CYP2C19* frequently seen in Japanese and Caucasians.
 Numbers in parenthesis are allele frequencies expressed as percentage. Arrows indicate causative mutations for *CYP2C19* deficiency.

3. CYP2C9

CYP2C9 は一連の非ステロイド性抗炎症薬、フェニトイン、ワルファリン、トルブタミドなどの代謝にかかわっている分子種である¹⁵⁾。CYP2C9 の活性を低下させる、あるいは低下させると推定されている変異遺伝子は現在 4 つ (CYP2C9*2, *3, *4, *5) 報告されており、まだ論文として発表されていないものも 7 つある¹⁾ (CYP2C9*6~*12)。これらのうち、臨床的に最も重要なものは CYP2C9*3 であり、エキソン 7 の 1 塩基置換により 359 番目のイソロイシンからロイシンへのアミノ酸置換が起こる。この変異タンパクは種々の基質に対する活性が著しく低下していることが COS 細胞あるいは酵母を用いた発現系により明らかにされている。しかし、その低下の程度には基質により差があり、ピロキシカム、テノキシカム、フェニトイン、メフェナム酸、トルブタミド、ワルファリンの水酸化活性は著しく低下するのに対し、ジクロフェナクの 4 位水酸化活性の低下は比較的少ない¹⁶⁾ (Fig. 4)。このような基質による活性低下の差異が *in vivo* でも認められるか否かは明確では

ないが、CYP2C9*3 をホモあるいはヘテロで持つ個体では、ワルファリン、トルブタミド、フェニトインのクリアランスが著しい低下を示すのに対し¹⁵⁾、ジクロフェナクの 4 位水酸化活性は明確な低下を示さないことが報告されている¹⁷⁾。

CYP2C9*3 の頻度は人種間で異なっており、コーカサス人種では 6~8% であるのに対し日本人における頻度は約 2% である¹⁸⁾。この頻度に基づくコーカサス人種のホモ接合体の推定出現頻度は 150~300 人に 1 人であるのに対し、日本人のホモ接合体の推定出現頻度は 2500 人に 1 人と極めて少ない。しかし、ヘテロ接合体の推定出現頻度は約 25 人に 1 人であり、フェニトインのように治療域が狭い薬物では十分に臨床的な問題となりうる。

一方、CYP2C9*2 はエキソン 3 の 1 塩基置換であり 144 番目のアルギニンのシステインへの置換を伴う。このアミノ酸置換による CYP2C9 の活性の変化については必ずしも一定の結果が得られていない。実際、この変異を持つ個体から得られたヒト肝ミクロソームで CYP2C9 の活性がほとんど変化していないのに対し¹⁹⁾、

Fig. 4 Michaelis-Menten plots for various substrates of CYP2C9 by wild-type CYP2C9 and Leu³⁵⁹ variant¹⁷⁾.

CYP2C9*2 のヘテロ接合体と野生型のホモ接合体の患者で比較した結果では、ワーファリンの維持量が野生型より 20% 低いとの報告もあり²⁰⁾、活性が幾分低下する可能性も残されている。CYP2C9*2 はコーカサス人種で 8~12% の頻度で認められるのに対し、日本人を含むモンゴル人種ではまだ確認されていないことから極めて低い頻度でしか存在しないと考えられている。

CYP2C9*4 は日本人のてんかん患者から見出された変異遺伝子であり、369 番目のイソロイシンがトレオニンに変わる²¹⁾。頻度は低いと考えられているが、CYP2C9*3 と同じ部位のアミノ酸が置換していることから活性低下の可能性が示唆されている。

CYP2C9*5 はエキソン 7 の 1 塩基置換に伴って 360 番目のアスパラギン酸がグルタミン酸に変わる遺伝子変異であり、昆虫細胞発現系における活性は野生型の 8~13% に低下する²²⁾。CYP2C9*5 は現在のところアフリカ人でのみその存在が確認されており、遺伝子頻度は約 3% である。

4. CYP3A4

In vivo における CYP3A4 の活性には大きな個人差が存在するが、それが遺伝子多型で説明されるか否かは現在のところ不明である。しかし、CYP で代謝を受ける薬物の半数以上が CYP3A4 によるものであることから、この分子種に臨床的に意味のある多型が存在するか否かは重要な問題である。現在までに CYP3A4 遺伝子の翻訳領域に 12、非翻訳領域に 5 つの遺伝子変異が報告されている¹⁾。このうち 5' 上流の変異である CYP3A4*1B についてはミダゾラムを用いた検討から *in vivo* でのクリアランスの低下が示唆されているが、変異群と対照群で人種の偏りがあり、結果をそのままには受け取るには問題が残る²³⁾。

CYP3A4*2 は 222 番目のセリンがプロリンに置換される変異で、発現系を用いた検討からニフェジピンの水酸化活性が野生型の 12~15% に低下することが明らかにされている²⁴⁾。しかし、テストステロン 6 β -水酸化活性に大きな変化は認められず、*in vivo* で実際に活性が低下するか否かは現在のところ不明である。この変異は日本人ではほとんど認められない。

CYP3A4*3 は 445 番目のメチオニンがスレオニンに置換する変異で中国人の被験者から見出された。この変異の頻度と CYP3A4 活性に及ぼす影響についてはまだ明らかにされていない²⁴⁾。中国人ではその他 3 つの変異遺伝子 (CYP3A4*4, *5, *6) の存在が報告されている²⁵⁾。前二者は尿中のコーチゾールと 6 β -水酸化コーチゾールの比から、CYP3A4*6 についてはフレームシフトを伴うことから活性の低下が示唆されている。

最近、213 人のコーカサス人種の DNA 試料を用い

て CYP3A4 遺伝子のコード領域に存在する SNP の解析が行われ、8 つのアミノ酸置換を伴う変異遺伝子が確認された²⁶⁾。これらの遺伝子を大腸菌に発現させ活性を野生型と比較した結果、活性がほぼ検出されなくなったものが 2 つ (CYP3A4*8, *13)、発現量の有意な低下を示したものが 1 つ (CYP3A4*11)、代謝物の生成パターンおよび酵素学的な特徴が変化したものが 1 つ (CYP3A4*12) 見出された。しかし、いずれの遺伝子発現頻度も 1% 以下であり、CYP3A4 の個人差にはそれ程大きな要因になっていないと推測されている。これらの変異遺伝子の他人種における頻度は明らかにされていない。上記以外に、論文としてはまだ発表されていない CYP3A4 の変異遺伝子が 6 つ存在する¹⁾。

5. その他の CYP

CYP1A2 については非翻訳領域に 7 つ、翻訳領域に 5 つの変異遺伝子が報告されており、このうち CYP1A2*1C では誘導の低下、CYP1A2*1F では増強が示唆されている¹⁾。

CYP2E1 については非翻訳領域に 3 つ、翻訳領域に 6 つの変異遺伝子が報告されているが、*in vivo* における活性に大きな影響を与える変異はまだ報告されていない¹⁾。

CYP2A6 についてはこれまでに 9 つの変異遺伝子と遺伝子増幅が報告されている。日本人では CYP2A6 遺伝子の全欠損 (CYP2A6*4) が比較的高い頻度で存在し、日本人における遺伝子頻度が約 20% に達する¹⁾。

CYP2B6 については最近グリシンからヒスチジンへの置換を伴う変異の存在が明らかにされた。この変異の日本人における頻度は約 20% である²⁷⁾。

おわりに

CYP は薬物の代謝にかかわる最も主要な酵素群であり、CYP の遺伝子多型は薬物の効果や副作用発現に大きな影響を与える可能性がある。現在、世界中で薬物代謝酵素を含めた有用な SNP の探索が行われており、我国でもファルマスニップコンソーシアムが 180 個の薬物動態関連遺伝子について日本人における SNP の探索と頻度解析を行っている。おそらくここ数年の間に主要な CYP の遺伝子情報の蓄積が急速に進み、医薬品開発や臨床における適正使用に利用できる基盤が整ってくるものと思われる。

文 献

- 1) Home Page of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele, <http://www.imm.ki.se/CYPAlleles/>
- 2) Eichelbaum M, Gross AS: The genetic polymorphism of debrisoquine/sparteine metabolism—clinical aspects.

- Pharmacol Ther* **46**: 377–94, (1990).
- 3) Griesse EU, Zanger UM, Brudermanns U, Gaedigk A, Mikus G, Morike K, Stuvén T, Eichelbaum M: Assessment of the predictive power of genotypes for the *in-vivo* catalytic function of CYP2D6 in a German population. *Pharmacogenetics* **8**: 15–26, (1998).
 - 4) Yokoi T, Kosaka Y, Chida M, Chiba K, Nakamura H, Ishizaki T, Kinoshita M, Sato K, Gonzalez FJ, Kamataki T: A new CYP2D6 allele with nine base insertion in exon 9 in a Japanese population associated with poor metabolizer phenotype. *Pharmacogenetics* **6**: 395–401, (1996).
 - 5) Chida M, Yokoi T, Kosaka Y, Chiba K, Nakamura H, Ishizaki T, Yokota J, Kinoshita M, Sato K, Inaba M, Aoki Y, Gonzalez FJ, Kamataki T: Genetic polymorphism of CYP2D6 in Japanese population. *Pharmacogenetics* **9**: 601–605, (1999).
 - 6) Kubota T, Yamaura Y, Ohkawa H, Hara H, Chiba K: Frequencies of CYP2D6 mutant alleles in a normal Japanese population and metabolic activity of dextromethorphan O-demethylation in different CYP2D6 genotypes. *Br J Clin Pharmacol* **50**: 31–34, (2000).
 - 7) Nishida Y, Fukuda T, Yamamoto I, Azuma J: CYP2D6 genotypes in a Japanese population: Low frequencies of CYP2D6 gene duplication but high frequency of *CYP2D6**10. *Pharmacogenetics* **10**: 567–70, (2000).
 - 8) Johansson I, Oscarson M, Yue QY, Bertilsson L, Sjöqvist F, Ingelman-Sundberg M: Genetic analysis of the Chinese cytochrome P4502D locus: Characterization of variant CYP2D6 genes present in subjects with diminished capacity for debrisoquine hydroxylation. *Mol Pharmacol* **46**: 452–9, (1994).
 - 9) Dalen P, Dahl ML, Ruiz ML, Nordin J, Bertilsson L: 10-Hydroxylation of nortriptyline in white persons with 0, 1, 2, 3, and 13 functional CYP2D6 genes. *Clin Pharmacol Ther* **63**: 444–52, (1998).
 - 10) Ishizaki T, Horai Y: Cytochrome P450 and the metabolism of proton pump inhibitors—emphasis on ranitidine. *Aliment Pharmacol Ther* **13** (Suppl 3): 27–36, (1999).
 - 11) Bertilsson L: Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19. *Clin Pharmacokinet* **9**: 192–209, (1995).
 - 12) Furuta T, Ohashi K, Kamata T, Takashima M, Kosuge K, Kawasaki T, Hanai H, Kubota T, Ishizaki T, Kaneko E: Effect of genetic differences in omeprazole metabolism on cure rates for *Helicobacter pylori* infection and peptic ulcer. *Ann Intern Med* **129**: 1027–30, (1998).
 - 13) Goldstein JA, de Morais SM: Biochemistry and molecular biology of the human CYP2C subfamily. *Pharmacogenetics* **4**: 285–99, (1994).
 - 14) Kubota T, Chiba K, Ishizaki T: Genotyping of S-mephenytoin 4'-hydroxylation in an extended Japanese population. *Clin Pharmacol Ther* **60**: 661–666, (1996).
 - 15) Miners JO, Birkett DJ: Cytochrome P4502C9: An enzyme of major importance in human drug metabolism. *Br J Clin Pharmacol* **45**: 525–38 (1998).
 - 16) Takanashi K, Tainaka H, Kobayashi K, Yasumori T, Hosokawa M, Chiba K: CYP2C9Ile359 and Leu359 variants: Enzyme kinetics study seven substrates. *Pharmacogenetics* **10**: 95–104 (2000).
 - 17) Shimamoto J, Ieiri I, Urae A, Kimura M, Kubota T, Chiba K, Ishizaki T, Otsubo K, Higuti S: Lack of differences in diclofenac (a substrate for CYP2C9) pharmacokinetics in healthy Japanese volunteers with respect to the single *CYP2C9*3* allele. *Eur J Clin Pharmacol* **56**: 65–68 (2000).
 - 18) Nasu K, Kubota T, Ishizaki T: Genetic analysis of CYP2C9 polymorphism in a Japanese population. *Pharmacogenetics* **7**: 405–9 (1997).
 - 19) Yamazaki H, Inoue K, Chiba K, Ozawa N, Kawai T, Suzuki Y, Goldstein JA, Guengerich FP, Shimada T: Comparative studies on the catalytic roles of cytochrome P450 2C9 and its Cys- and Leu-variants in the oxidation of warfarin, flurbiprofen, and diclofenac by human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* **56**: 243–51 (1998).
 - 20) Furuya H, Fernandez-Salguero P, Gregory W, Taber H, Steward A, Gonzalez FJ, Idle JR: Genetic polymorphism of CYP2C9 and its effect on warfarin maintenance dose requirement in patients undergoing anticoagulation therapy. *Pharmacogenetics* **5**: 389–92 (1995).
 - 21) Imai J, Ieiri I, Mamiya K, Miyahara S, Furuumi H, Nanba E, Yamane M, Fukumaki Y, Ninomiya H, Tashiro N, Otsubo K, Higuchi S: Polymorphism of the cytochrome P450 (CYP) 2C9 gene in Japanese epileptic patients: Genetic analysis of the CYP2C9 locus. *Pharmacogenetics* **10**: 85–9, 2000
 - 22) Dickmann LJ, Rettie AE, Kneller MB, Kim RB, Wood AJ, Stein CM, Wilkinson GR, Schwarz UI: Identification and functional characterization of a new CYP2C9 variant (*CYP2C9*5*) expressed among African Americans. *Mol Pharmacol* **60**: 382–7 (2001).
 - 23) Wandel C, Witte JS, Hall JM, Stein CM, Wood AJ, Wilkinson GR: CYP3A activity in African American and European American men: Population differences and functional effect of the *CYP3A4*1B5'*-promoter region polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* **68**: 82–91 (2000).
 - 24) Sata F, Sapone A, Elizondo G, Stocker P, Miller VP, Zheng W, Raunio H, Crespi CL, Gonzalez FJ: CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: Evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clin Pharmacol Ther* **67**: 48–56 (2000).
 - 25) Hsieh KP, Lin YY, Cheng CL, Lai ML, Lin MS, Siest JP, Huang JD: Novel mutations of CYP3A4 in Chinese. *Drug Metab Dispos* **29**: 268–73 (2001).
 - 26) Eiselt R, Domanski TL, Zibat A, Mueller R, Presecan-Siedel E, Hustert E, Zanger UM, Brockmoller J, Klenk HP, Meyer UA, Khan KK, He YA, Halpert JR, Wojnowski L: Identification and functional characterization of eight CYP3A4 protein variants. *Pharmacogenetics* **11**: 447–58 (2001).
 - 27) Ariyoshi N, Miyazaki M, Toide K, Sawamura Yi, Kamataki T: A single nucleotide polymorphism of CYP2b6 found in Japanese enhances catalytic activity by autoactivation. *Biochem Biophys Res Commun* **281**: 1256–60 (2001).